

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.01.012

子宫内膜癌中 NF- κ B、MCP-1 蛋白的表达及意义*李彩霞¹, 江玲^{1△}, 邓伟², 黄江生²

(南京中医药大学附属昆山市中医医院:1. 妇产科;2. 病理科, 江苏昆山 215300)

摘要:目的 检测子宫内膜癌组织中核转录因子- κ B(NF- κ B)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达并探讨其意义。方法 选取该院及江苏省苏北人民医院 2003 年 1 月至 2013 年 12 月子宫内膜癌标本 52 例,采用免疫组织化学 SP 法检测 52 例子宫内膜癌、16 例子宫内膜不典型增生、19 例增生期子宫内膜中 NF- κ B、MCP-1 蛋白的表达,及子宫内膜癌中两者与临床病理特征的关系和两者间的相关性。结果 子宫内膜癌组织中 NF- κ B、MCP-1 蛋白的表达明显高于子宫内膜不典型增生、增生期子宫内膜($P<0.05$),NF- κ B 和 MCP-1 的表达与组织学分级、肌层浸润深度有关($P<0.05$),与临床分期、淋巴结转移无关($P>0.05$),二者之间的表达呈正相关($r=0.895, P<0.05$)。结论 NF- κ B、MCP-1 蛋白参与子宫内膜癌的发生发展过程。

关键词:子宫内膜肿瘤;NF- κ B;MCP-1;免疫组织化学

中图分类号:R711

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2015)01-0036-04

Expression and significance of NF- κ B and MCP-1 in endometrial carcinoma*Li Caixia¹, Jiang Ling^{1△}, Deng Wei², Huang Jiangsheng²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Affiliated Kunshan Hospital of of Nanjing Chinese Medicine University, Kunshan, Jiangsu 215300, China; 2. Department of Pathology, Affiliated Kunshan Hospital of of Nanjing Chinese Medicine University, Kunshan, Jiangsu 215300, China)

Abstract: Objective To detect the expression of NF- κ B, MCP-1 in the endometrial carcinoma and their significance. **Methods** The expression of NF- κ B, MCP-1 in 52 cases of patients with endometrial carcinoma selected from January 2003 to December 2013, and in 16 cases of endometrial atypical hyperplasia and 19 cases of proliferative endometrial were detected by immunohistochemistry assay. The relationship and correlation between clinical pathological characteristics was analyzed. **Results** The expressions of NF- κ B, MCP-1 proteins were significantly higher in the endometrial carcinoma than those of the endometrial atypical hyperplasia and proliferative endometrial ($P<0.05$). The expressions of NF- κ B and MCP-1 were related with histological grade and myometrial invasion ($P<0.05$), but independent of clinical stage and lymph node metastasis ($P>0.05$). The expressions of these two proteins were positively correlated ($r=0.895, P<0.05$). **Conclusion** NF- κ B, MCP-1 may participate in the progress of endometrial carcinoma.

Key words: endometrial neoplasms; NF- κ B; MCP-1; immunohistochemistry

核转录因子- κ B(NF- κ B)是一个重要转录调控因子,参与许多靶基因的转录调控。研究报道称,凡启动子或增强子中含有 NF- κ B 结合位点的基因均可接受核因子 κ B 的调节^[1]。单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)作为 CC 趋化因子家族的主要成员,具有趋化及活化单核巨噬细胞的功能,其基因启动子部位存在 NF- κ B 的结合位点^[2]。因此,NF- κ B 通过调控 MCP-1,参与多种疾病的发生、发展过程。本文通过对子宫内膜癌中 NF- κ B、MCP-1 的检测,探讨他们在子宫内膜癌中的表达及与临床病理特征的联系,以及 NF- κ B 与 MCP-1 两者间的相关性,期为子宫内膜癌中两者间的调控机制的研究及探讨子宫内膜癌的诊断治疗新策略奠定研究基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院及江苏省苏北人民医院 2003 年 1 月至 2013 年 12 月子宫内膜癌标本 52 例,平均年龄(52.6±6.4)岁,所有子宫内膜癌患者术前均未行放、化疗及激素治疗。按 2000 年国际妇产科联盟(FIGO)标准进行临床病理分期及组织学分级:I 期 39 例,II 期 7 例,III 期 5 例,IV 期 1 例;G1 级

20 例,G2 级 13 例,G3 级 19 例;病灶局限于黏膜层及浸润小于 1/2 肌层 16 例,浸润大于 1/2 肌层 36 例;有淋巴结转移 6 例,无淋巴结转移 46 例。另有子宫内膜不典型增生标本 16 例,因子宫肌瘤行手术切除子宫的增生期子宫内膜 19 例。

1.2 方法 兔抗人多克隆 NF- κ B p65 抗体浓缩液,购于 Immunoway 公司,工作浓度 1:200;兔抗人多克隆 MCP-1 抗体浓缩液,购于北京博奥森公司,工作浓度 1:200。免疫组织化学 SP 试剂盒、DAB 显色试剂购于福州迈新生物技术有限公司。所有标本均为石蜡包埋的存档标本,连续切片 4 张,厚 5 μ m。采用免疫组织化学 SP 二步法,取已知切片作为阳性对照,以 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 NF- κ B p65 亚基免疫组化阳性产物呈棕黄色细颗粒状,主要定位于肿瘤细胞细胞质中。MCP-1 免疫组织化学阳性产物呈棕黄色细颗粒状,主要定位于肿瘤细胞细胞质中。参照 Ozdemir 方法按切片中阳性物质的量及表达强度分为 4 级:高倍镜下随机观察记数 10 个高倍视野($\times 200$),不少于 1 500 个细胞中阳性细胞所占百分数,根据阳性细胞数和显

色强度分为,(-):阳性细胞数小于 5%或无阳性物质的表达;(+):阳性细胞数 5%~<25%或显色浅;(++):阳性细胞数 25%~<50%或显色深;(+++):阳性细胞数大于或等于 50%及显色深。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计软件,有序分类变量资料采用秩和检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,两者之间的相关性运用 Spearman 相关分析检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组中 NF- κ B 蛋白的表达 NF- κ B 在增生期子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜癌中阳性表达率分别为 15.79%、18.75%、82.69%。三者间的差异有统计学意义($\chi^2=36.57, P<0.05$)。其中增生期子宫内膜与子宫内膜不典型增生两者的表达率差异无统计学意义($\chi^2=0.00, P>0.05$),增生期子宫内膜与子宫内膜癌两者的表达率差异有统计学意义($\chi^2=27.30, P<0.05$),子宫内膜不典型增生与子宫内膜癌两者的表达率差异有统计学意义($\chi^2=22.86, P<0.05$)。NF- κ B 在增生期子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜癌中表达强度有统计学意义($P<0.05$),3 组两者之间表达强度均有统计学意义($P<0.05$),见表 1,图 1。

表 1 NF- κ B 在 3 组中的表达 (n)

组别	n	NF- κ B 蛋白的表达				χ^2	P
		-	+	++	+++		
增生期子宫内膜	19	16	3	0	0	36.57	0.00
子宫内膜不典型增生	16	13	2	1	0		
子宫内膜癌	52	9	16	14	13		

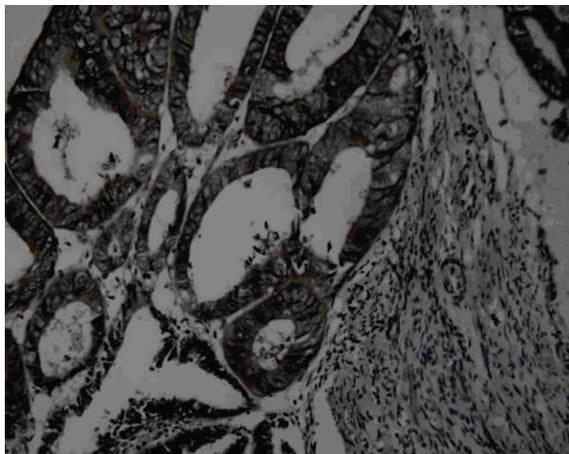


图 1 NF- κ B 在子宫内膜癌中的表达 (SP×200)

NF- κ B 在子宫内膜癌 I 期、II-IV 期中阳性表达率分别为 79.49%、92.31%,两者的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$),两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$)。NF- κ B 在子宫内膜癌高分化、中低分化中阳性表达率分别为 65.00%、93.75%,两者的阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$),两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$)。NF- κ B 在子宫内膜癌肌层浸润深度小于 1/2、大于 1/2 中阳性表达率分别为 62.50%、91.67%,两者的阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$),两者的表达强度差异有统计学意义($P<0.05$)。NF- κ B 在子宫内膜癌无淋巴结转移、有淋巴结转移中阳性表达率分别

为 82.61%、83.33%,两者的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$),两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 NF- κ B 与子宫内膜癌临床病理关系 (n)

临床病理	n	NF- κ B 蛋白的表达				χ^2	P
		-	+	++	+++		
FIGO 分期						0.40	>0.05
I	39	8	13	9	9		
II-IV	13	1	3	5	4		
组织分级						5.24	<0.05
高分化	20	7	7	3	3		
中低分化	32	2	9	11	10		
肌层浸润						4.70	<0.05
<1/2	16	6	5	3	2		
>1/2	36	3	11	11	11		
淋巴转移						0.00	>0.05
无	46	8	16	13	9		
有	6	1	0	1	4		

2.2 3 组中 MCP-1 蛋白的表达 MCP-1 在增生期子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜癌中阳性表达率分别为 10.53%、12.50%、76.92%。三者间的差异有统计学意义($\chi^2=35.91, P<0.05$)。其中增生期子宫内膜与子宫内膜不典型增生两者的表达率差异无统计学意义($\chi^2=0.00, P>0.05$),增生期子宫内膜与子宫内膜癌两者的表达率差异有统计学意义($\chi^2=25.39, P<0.05$),子宫内膜不典型增生与子宫内膜癌两者的表达率差异有统计学意义($\chi^2=21.50, P<0.05$)。MCP-1 在增生期子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜癌中表达强度差异有统计学意义($P<0.05$),增生期子宫内膜与子宫内膜不典型增生两者的表达强度差异有统计学意义($P<0.05$),增生期子宫内膜与子宫内膜癌两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$),子宫内膜不典型增生与子宫内膜癌两者的表达强度无统计学意义($P>0.05$)。见表 3,见图 2。

表 3 MCP-1 在 3 组中的表达 (n)

组别	n	MCP-1 蛋白的表达				χ^2	P
		-	+	++	+++		
增生期子宫内膜	19	17	2	0	0	35.91	<0.05
子宫内膜不典型增生	16	14	1	1	0		
子宫内膜癌	52	12	16	13	11		

MCP-1 在子宫内膜癌 I 期、II-IV 期中阳性表达率分别为 76.92%、76.92%,两者的阳性表达率差异无统计学意义($\chi^2=0.00, P>0.05$),两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$)。MCP-1 在子宫内膜癌高分化、中低分化中阳性表达率分别为 55.00%、90.63%,两者的阳性表达率差异有统计学意义($\chi^2=6.91, P<0.05$),两者的表达强度有统计学意义($P<0.05$)。MCP-1 在子宫内膜癌肌层浸润深度小于 1/2、大于 1/2 中阳性表达率分别为 50.00%、88.89%,两者的阳性表达率差异有统计学意义($\chi^2=7.37, P<0.05$),两者的表达强度差异有统计学意义($P<0.05$)。MCP-1 在子宫内膜癌无淋巴结转移、有淋

巴结转移中阳性表达率分别为 76.09%、83.33%，两者的阳性表达率差异无统计学意义($\chi^2=0.00, P>0.05$)，两者的表达强度差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 4。

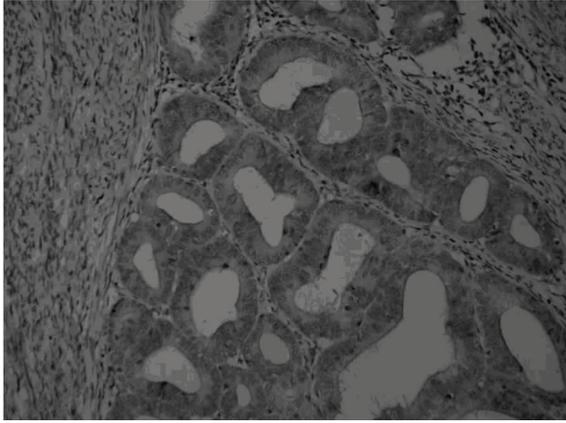


图 2 MCP-1 在子宫内膜癌中的表达 (SP×200)

表 4 MCP-1 与子宫内膜癌临床病理关系 (n)

临床病理	n	MCP-1 蛋白的表达				χ^2	P
		-	+	++	+++		
FIGO 分期						0.00	>0.05
I	39	9	14	11	5		
II-IV	13	3	2	2	6		
组织分级						6.91	<0.05
高分化	20	9	5	3	3		
中低分化	32	3	11	10	8		
肌层浸润						7.37	<0.05
<1/2	16	8	4	2	2		
>1/2	36	4	12	11	9		
淋巴转移						0.00	>0.05
无	46	11	16	12	7		
有	6	1	0	1	4		

2.3 NF- κ B、MCP-1 在子宫内膜癌组织中的相关性分析

NF- κ B 和 MCP-1 在子宫内膜癌组织中的表达呈显著正相关($r=0.895, P<0.05$)，见表 5。

表 5 NF- κ B 和 MCP-1 蛋白在子宫内膜癌组织中的相关性 (n)

NF- κ B 蛋白表达	MCP-1 蛋白表达		合计	r	P
	阳性	阴性			
阳性	37	6	43	0.895	<0.05
阴性	3	6	9		
合计	40	12	52		

3 讨论

NF- κ B 是重要转录调控因子，它广泛存在于细胞中，参与机体的多种调节功能，如免疫应答^[3]、细胞增殖^[4]、生长分化^[5]、细胞周期、凋亡^[6]，而且与肿瘤的发生发展浸润转移密切相关^[7]。Pallares 等^[8]的研究发现，NF- κ B 可能通过调控细胞增殖和凋亡在子宫内膜癌的发生、发展过程中发挥举足轻重的

作用。王琰等^[9]研究发现 NF- κ B 在子宫内膜癌组织中的表达明显高于正常子宫内膜组织，并且 NF- κ B 的阳性表达与子宫内膜癌中淋巴结转移、病理分期、浸润深度及组织学分级有关。本研究显示 NF- κ B 在子宫内膜癌组织中的阳性表达率明显高于增生期子宫内膜和子宫内膜不典型增生，且 NF- κ B 在子宫内膜癌中低分化组阳性表达率明显高于高分化者，肌层浸润深度大于 1/2 者中阳性表达率明显高于肌层浸润深度小于 1/2 者，可见 NF- κ B 参与了子宫内膜癌发生、发展、浸润、转移的生物学过程。

MCP-1 是 CC 趋化因子家族成员之一。MCP-1 主要由单核细胞、淋巴细胞、成纤维细胞、内皮细胞及人和鼠的肿瘤细胞分泌。MCP-1 参与多种疾病的发生、发展，包括动脉粥样硬化^[10]、炎症反应^[11]、肿瘤^[12]等。郑晓霞等^[13]的研究发现，子宫内膜癌组织中单核细胞趋化蛋白在 mRNA 和蛋白水平均表达明显增强，单核细胞趋化蛋白对子宫内膜癌的发病及进展均有一定的促进作用。本研究显示 MCP-1 在子宫内膜癌组织中的阳性表达率明显高于增生期子宫内膜和子宫内膜不典型增生，且 MCP-1 在子宫内膜癌中低分化者阳性表达率明显高于高分化者、肌层浸润深度大于 1/2 者中阳性表达率明显高于肌层浸润深度小于 1/2 组，可见 MCP-1 参与了子宫内膜癌发生、发展、浸润、转移的生物学过程。

MCP-1 基因是一种小的可诱导基因家族成员之一，其基因启动子部位存在 NF- κ B 的结合位点。Deng 等^[14]的研究发现 MCP-1 通过 NF- κ B 信号通路调控低氧新生大鼠脑室周白质中神经胶质细胞的迁移。Panicker 等^[15]的研究发现，高血糖通过 NF- κ B 引起内皮细胞中 MCP-1 的合成。Ning 等^[16]的研究发现人成骨细胞中的金黄色葡萄球菌通过激活 NF- κ B 信号通路调节 MCP-1 的分泌。Lee 等^[17]的研究发现，在聚氨酯诱导的肺癌模型中 CC 趋化因子受体 5 的缺乏通过灭活 NF- κ B、抑制 MCP-1 抑制肿瘤的发展。本研究显示 NF- κ B 和 MCP-1 在子宫内膜癌组织中的表达呈显著正相关，提示 NF- κ B 可能通过调节 MCP-1 基因的表达在子宫内膜癌发生发展过程中发挥举足轻重的作用。

本研究显示 NF- κ B、MCP-1 参与了子宫内膜癌发生、发展、浸润、转移的生物学过程，且两者在子宫内膜癌组织中的表达呈显著正相关，这有利于进一步解析子宫内膜癌的发病机制，并发现更多的治疗靶点，以利于在不同层面阻断子宫内膜癌发生、发展的信号传导通路，从而为其防治策略探索新思路。

参考文献：

- [1] Smale ST. Dimer-specific regulatory mechanisms within the NF-kappa B family of transcription factors[J]. Immunol Rev, 2012, 246(1): 193-204.
- [2] 李彩霞, 孔祥. 单核细胞趋化蛋白 1 与妇科肿瘤[J]. 医学综述, 2008, 14(16): 2444-2447.
- [3] 刘彬果, 杨本明, 高骥. NF- κ B 在肠道炎症和免疫应答中的作用[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2009, 18(10): 886-888.
- [4] 何晓鹏, 毕研文, 刘相燕, 等. NF- κ B 信号通路阻断对内皮细胞增殖的抑制作用观察[J]. 山东医药, 2011, 51(38): 25-27.
- [5] 阎潇, 李菲菲, 刘丽娟, 等. 核转录因子 κ B 信号通路在应

- 力调控成肌细胞分化中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4441-4446.
- [6] 张瑞, 王选. 大鼠急性胰腺炎中核因子 NF- κ B 抗凋亡机制的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(24): 3740-3742.
- [7] Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF- κ B: control of oncogenesis and cancer therapy resistance[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1470(2): M55-62.
- [8] Pallares J, Martinez-Guitarte JL, Dolcet X, et al. Abnormalities in the NF- κ B family and related proteins in endometrial carcinoma[J]. *J Pathol*, 2004, 204(5): 569-577.
- [9] 王琰, 赵学锋, 杨华英, 等. P-P38 和 NF- κ B 蛋白在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 大连医科大学学报, 2012, 34(6): 550-553.
- [10] Tan CH, Liu Y, Li WN, et al. Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentrations with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(1): 199-203.
- [11] Strecker JK, Minnerup J, Schuette-Nuetgen K, et al. Monocyte chemoattractant protein-1-Deficiency results in altered Blood-Brain barrier breakdown after experimental stroke[J]. *Stroke*, 2013, 44(9): 2536-2544.
- [12] Nikolic Nielsen L, Kjelgaard-Hansen M, Kristensen AT. Monocyte chemotactic protein-1 and other inflammatory parameters in Bernese Mountain dogs with disseminated histiocytic sarcoma[J]. *Vet J*, 2013, 198(2): 424-428.
- [13] 郑晓霞. 单核细胞趋化蛋白在子宫内膜癌的表达和临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(26): 4116-4117.
- [14] Deng YY, Lu J, Ling EA, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) produced via NF- κ B signaling pathway mediates migration of amoeboid microglia in the periventricular white matter in hypoxic neonatal rats[J]. *Glia*, 2009, 57(6): 604-621.
- [15] Panicker SR, Kartha CC. Curcumin attenuates Glucose-Induced monocyte chemoattractant protein-1 synthesis in aortic endothelial cells by modulating the nuclear factor- κ B pathway[J]. *Pharmacology*, 2010, 85(1): 18-26.
- [16] Ning R, Zhang X, Guo X, et al. Staphylococcus aureus regulates secretion of interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 through activation of nuclear factor κ B signaling pathway in human osteoblasts[J]. *Braz J Infect Dis*, 2011, 15(3): 189-194.
- [17] Lee NJ, Choi DY, Song JK, et al. Deficiency of C-C chemokine receptor 5 suppresses tumor development via inactivation of NF- κ B and inhibition of monocyte chemoattractant protein-1 in urethane-induced lung tumor model[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(12): 2520-2528.
- (收稿日期: 2014-08-12 修回日期: 2014-10-25)
-
- (上接第 35 页)
- 2004, 62(5): 695-701.
- [7] Johnston SC, O'Meara ES, Manolio TA, et al. Cognitive impairment and decline are associated with carotid artery disease in patients without clinically evident cerebrovascular disease[J]. *Ann Intern Med*, 2004, 140(4): 237-247.
- [8] Fearn SJ, Hutchinson S, Riding G, et al. Carotid endarterectomy improves cognitive function in patients with exhausted cerebrovascular reserve[J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2003, 26(5): 529-536.
- [9] Safian RD, Bresnahan JF, Jaff MR, et al. Protected carotid stenting in high-risk patients with severe carotid artery stenosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(12): 2384-2389.
- [10] Marquardt L, Geraghty OC, Mehta Z, et al. Low risk of ipsilateral stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis on best medical treatment; a prospective, population-based study[J]. *Stroke*, 2010, 41(1): e11-17.
- [11] Ohta H, Nishikawa H, Kimura H, et al. Chronic cerebral hypoperfusion by permanent internal carotid ligation produces learning impairment without brain damage in rats[J]. *Neuroscience*, 1997, 79(4): 1039-1050.
- [12] Cheng Y, Wang YJ, Yan JC, et al. Effects of carotid artery stenting on cognitive function in patients with mild cognitive impairment and carotid stenosis[J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(4): 1019-1024.
- [13] Crawley F, Clifton A, Buckenham T, et al. Comparison of hemodynamic cerebral ischemia and microembolic signals detected during carotid endarterectomy and carotid angioplasty[J]. *Stroke*, 1997, 28(12): 2460-2464.
- [14] Chen CL, Iguchi Y, Garami Z, et al. Analysis of emboli during carotid stenting with distal protection device[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2006, 21(4): 223-228.
- [15] Gupta R, Abou-Chebl A, Bajzer CT, et al. Rate, predictors, and consequences of hemodynamic depression after carotid artery stenting[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(8): 1538-1543.
- [16] De Rango P, Caso V, Leys D, et al. The role of carotid artery stenting and carotid endarterectomy in cognitive performance a systematic review[J]. *Stroke*, 2008, 39(11): 3116-3127.
- [17] Lunn S, Crawley F, Harrison MJ, et al. Impact of carotid endarterectomy upon cognitive functioning. A systematic review of the literature[J]. *Cerebrovasc Dis*, 1999, 9(2): 74-81.
- [18] Bowie CR, Harvey PD. Administration and interpretation of the Trail Making Test[J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(5): 2277-2281.
- (收稿日期: 2014-08-23 修回日期: 2014-10-25)